

Control ecológico de malezas mediante el uso de las propiedades alelopáticas de la flora nicaragüense: el inicio de la experiencia en Nicaragua

Carolina Vega-Jarquín¹, Rosana Salgado², Rodolfo Munguía³, Marvin Fornos³, Osman Espinoza⁴ y Carlos Mendoza⁴

1 Programa de Recursos Genéticos (REGEN), Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua. E-mail: carolina.vega@una.edu.ni

2 Departamento de Protección Agrícola y Forestal, Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua.

3 Departamento de Producción Vegetal, Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua.

4 Tesistas del Departamento de Producción Vegetal, Universidad Nacional Agraria (UNA), Managua, Nicaragua.

Recibido: julio 2006 / Aceptado: octubre 2006

LAS INTERCCIONES BIOLÓGICAS MEDIANTE SEÑALES QUÍMICAS (alelopatía) tienen aplicaciones prácticas en la agricultura. Actualmente son un amplio campo de investigación agrícola de vanguardia. El Programa de Recursos Genéticos (REGEN) tiene como meta efectuar estudios de bioprospección de la flora nicaragüense y, paralelamente, contribuir al desarrollo de estrategias de control biológico y manejo sostenible, orientadas a la reducción de las densidades poblacionales de arvenses problemáticas identificadas en el país. La estrategia metodológica del proyecto consta de dos grandes fases: 1) estudiar la biología y ecología de la germinación de diferentes especies de malezas; y 2) evaluar en laboratorio y, posteriormente, escalar el estudio sobre el efecto alelopático de diversas especies de la flora nicaragüense sobre arvenses reconocidas como problemáticas y de alta incidencia nacional e internacional, como *Rottboellia cochinchinensis* y *Echinochloa colona* L. Paralelamente, implementar un sistema modelo utilizando variedades apropiadas de arroz (que se cultivan en Nicaragua) para los estudios de alelopatía. Resultados preliminares de los ensayos de germinación en condiciones de laboratorio, indican que los factores ambientales (humedad, temperatura) y diferentes mecanismos de dormancia podrían regular la germinación y la sobrevivencia de semillas de malezas; por lo que para efectuar cualquier estudio de control ecológico de malezas, se debe profundizar en el estudio de la biología y ecología de la germinación de las especies problemáticas.

Palabras clave: control de malezas / germinación / ecología vegetal / arroz-variedades-Nicaragua / alelopatía

Introducción

Las malezas son causa de grandes pérdidas en los ecosistemas agrícolas (Singh *et al.*, 2003). Los rendimientos del cultivo pueden descender entre 45-95%, dependiendo de las condiciones ecológicas y climáticas (Moody, 1991); Stephenson (2000) reporta que en el mundo se utilizan aproximadamente 3 mill de ton/año de herbicidas para el control de malezas; sin embargo, actualmente se realizan grandes esfuerzos para reducir la dependencia de herbicidas sintéticos y limitar su uso, por la urgente necesidad de minimizar los serios problemas que generan los sistemas de producción agrícola convencionales: contaminación ambiental, daños a la salud humana, descenso de la agrobiodiversidad, efectos negativos sobre la salud de los suelos y reducción de la productividad del cultivo (Khanh *et al.*, 2005). En este sentido, la alelopatía se ha sugerido como una de las posibles alternativas para alcanzar un manejo sostenible de malezas. Por ello, la investigación en torno a este fenómeno se considera estratégica (Duke *et al.*, 2003) por la gran cantidad de problemas ambientales que presionan para que las actividades de desarrollo de la sociedad se sustenten en procesos y tecnologías limpios, amigables con el ambiente y que contribuyan a la permanencia de los ecosistemas.

90

El concepto de alelopatía y regulación biosintética de los aleloquímicos

Las plantas que crecen juntas compiten unas con otras física y químicamente. La competencia entre plantas ha sido definida como *rivalidad por los recursos de espacio, luz, agua y nutrientes*; mientras la alelopatía se refiere al efecto de las interacciones químicas. El término alelopatía proviene de la palabra griega *allelon*, que significa “uno al otro” y *pathos*, “afectado”. El creador del concepto de alelopatía fue Hans Molisch, fisiólogo vienés; por su parte, Elroy Rice (1984) definió el término como *el efecto de una planta sobre otra a través de la liberación de compuestos químicos al ambiente*. Esta definición amplia de alelopatía incluye los efectos negativos (inhibición del crecimiento) y positivos (promoción del crecimiento). Sin embargo, en la actualidad se ha sugerido que la alelopatía se estudie en el contexto de la ecología-química de los suelos y podría considerarse como una interacción química directa entre planta y planta.

Lambers *et al.* (1998), definieron el término alelopatía como *la eliminación o disminución del crecimiento de una especie de planta debido a la liberación de compuestos tóxicos provenientes de otra*. Los avances recientes en las técnicas cromatográficas han permitido encontrar compuestos biológicamente activos que pueden explicar el comportamiento alelopático (Duke *et al.*, 1998); terpenos y compuestos aromáticos (fenoles, taninos, quinonas) son los dos principales grupos químicos implicados como agentes alelopáticos. Estos compuestos naturales se conocen como aleloquímicos y diversos autores han mencionado que su producción es un fenómeno que depende de la interacción gen-ambiente (Olofdotter *et al.*, 2002; Inderjit and Duke, 2003), diferentes tipos de estreses incrementan la producción de aleloquímicos y algunos estudios ilustran claramente que la síntesis de éstos pueden ser controlada, al nivel transcripcional, por medio de factores ambientales (N fertilización); compuestos usados como herbicidas podrían también influir en la síntesis de los aleloquímicos (Lydon y Duke, 1993). El-Khawas y Shehata (2005) reportaron también que la síntesis de estos compuestos alelopáticos producidos por las plantas está

regulada por factores ambientales abióticos como luz, temperatura, humedad, nutrientes y microorganismos del suelo. De todo ello se deduce que la regulación de la biosíntesis de estos compuestos naturales es altamente compleja. Los mecanismos que intervienen son de gran interés científico y, probablemente, entenderlos contribuirá a aplicarlos en el manejo sostenible de los cultivos, al permitir un control de malezas y plagas con un muy bajo o ningún efecto negativo sobre el ambiente y que contribuye a reducir el uso de herbicidas sintéticos.

Inderjit y Duke (2003) enfatizan que el término aleloquímico se relaciona con el papel que un compuesto desempeña en una situación dada y no con la identidad química de dicho compuesto. Por tanto, para considerar un compuesto químico como un agente alelopático, debe analizarse: la forma en que es liberado al ambiente, su acción fitotóxica (sitio “blanco”), su concentración bioactiva, su persistencia y su destino en el ambiente. Por otro lado, aunque las características alelopáticas de determinadas especies o cultivos pueden ser consideradas como un rasgo genético que incrementa la capacidad competitiva de dichas especies (Olofsdotter, 2001) el entendimiento de los componentes genéticos, fisiológicos y ecológicos de este complejo mecanismo químico natural tienen una importancia creciente en la investigación científica. Actualmente hay opiniones contrapuestas acerca del potencial alelopático de diferentes compuestos químicos liberados por las plantas, porque numerosos investigadores coinciden en que es difícil documentar pruebas de esta actividad en condiciones de campo (Inderjit y Nilsen, 2003).

Perspectivas de la alelopatía como un componente del manejo sostenible de los agroecosistemas

Los plaguicidas sintéticos no sólo afectan a las plagas y los cultivos. También actúan negativamente sobre el suelo, especies benéficas, reservas de agua, alimentos y la salud humana. Sin embargo, compuestos de origen biológico como los que intervienen en la interacción entre plantas a través de señales, tienen aplicación práctica en la agricultura y constituyen un campo de investigación agrícola de vanguardia. Adicionalmente, un gran número de arvenses y árboles presentan propiedades alelopáticas con efectos inhibitorios sobre el crecimiento de las especies vegetales, pero ha sido reconocido que la alelopatía juega también un papel importante en la inhibición del crecimiento de especies consideradas como malezas (Chung *et al.*, 2003) y se postula que los factores que pueden influenciar la actividad de un compuesto aleloquímico son producto de interacción genética-ambiente (Olofsdotter *et al.*, 2002). Por ello, el uso de la alelopatía para controlar malezas puede realizarse utilizando directamente las interacciones alelopáticas naturales, particularmente de las plantas cultivadas, o usando los aleloquímicos como herbicidas naturales. Este uso de la alelopatía debe ser estudiado para cada situación. En el primer caso, las plantas cultivadas que presentan potencial alelopático al ser usadas como cobertura (mulch, abonos verdes, en sistemas de rotación o en cultivos en asocio) sirven para reducir el efecto de las malezas y de patógenos de plantas, mejoran la calidad del suelo y los rendimientos de los cultivos. En el segundo caso, los aleloquímicos presentes en las plantas superiores, incluyendo especies no cultivadas, podrían ser usados directamente para el manejo de malezas, contribuyendo al desarrollo de herbicidas biológicos.

Actualmente, es de importancia estratégica global el desarrollo de sistemas de cultivo en que se investiguen y aprovechen estrategias de manejo de los agroecosistemas, basadas en el manejo adecuado de las interacciones biológicas, en su estabilidad y en la búsqueda y uso de tecnologías limpias y amigables con el ambiente. Las investigaciones en agricultura orgánica y sostenible están enfocadas en el mejoramiento genético, la fertilidad de los suelos, las labores culturales, la protección de los cultivos y en los sistemas de cultivo. La alelopatía y la ecología química están directamente involucradas en cada uno de estos aspectos y pueden jugar un papel importante en la productividad del cultivo, en la conservación de la diversidad genética y en el mantenimiento de la estabilidad de los ecosistemas. De manera que en el diseño de estrategias apropiadas para conseguir una producción sostenible con el mínimo deterioro ambiental, el estudio de la alelopatía podría contribuir con el manejo general de las especies en tiempo y espacio, ya que podría ser la base para el control biológico de plagas y malezas y para el descubrimiento de nuevas drogas, herbicidas, plaguicidas y reguladores de crecimiento biodegradables.

Compuestos alelopáticos y bioensayo

92

Los bioensayos o pruebas de toxicidad son herramientas analíticas biológicas para cuantificar la toxicidad de un contaminante o de una muestra ambiental utilizando organismos específicos (Renoux y Sunahara, 2002). Los bioensayos son usualmente diseñados para probar una hipótesis. Rimando *et al.* (2001) señalan que cuando el objetivo de una investigación es la búsqueda de un compuesto activo cuya identidad química es desconocida, la mejor elección son los bioensayos de exploración que integran los resultados de las pruebas de actividad biológica con el proceso de separación de compuestos en una mezcla. La mayoría de los estudios sobre aleloquímicos o ecotoxinas se efectúan inicialmente en el nivel de laboratorio, aunque estos experimentos tienen muchas limitaciones porque, en condiciones de campo y dada la complejidad biosintética de estas señales químicas naturales, podrían combinarse diferentes componentes para originar el efecto alelopático.

Sin embargo, los bioensayos constituyen una herramienta importante para entender un particular componente de la alelopatía. Son muchos los fenómenos que se pueden estudiar mediante bioensayos: la presencia y liberación de aleloquímicos, el efecto de los aleloquímicos, la inhibición del crecimiento de la “especie blanco”, o la interferencia de éste sobre procesos fisiológicos, la destoxificación e incluso la interacción de promotores, inhibidores, y el efecto de los aleloquímicos sobre la dinámica de nutrientes o sobre la ecología microbiana; pero los parámetros de crecimiento a evaluar deben ser cuidadosamente seleccionados en el diseño de los bioensayos. Además, los resultados negativos no deben tomarse como prueba definitiva de que los aleloquímicos no están presentes. Por ello, la realización de bioensayos *in situ* es una de las mejores formas de asegurar que cualquier prueba de alelopatía refleje las condiciones de los ecosistemas naturales o agrícolas.

La Ilustración 1 justifica por qué el uso de compuestos naturales en la protección de cultivos es una tendencia actual de la agricultura, debido al interés mundial por disminuir el uso de agroquímicos; asimismo, la necesidad de diseñar y desarrollar investigaciones que permitan comprender las interacciones biológicas-químicas entre plantas. Estas investigaciones contribuirán a crear los fundamentos teóricos del manejo sostenible de malezas y plagas.

Por ello, el estudio de las propiedades alelopáticas de determinadas especies de la flora nicaragüense y posterior identificación de los aleloquímicos constituye una prioridad en la búsqueda de estrategias de control ecológico y del establecimiento de sistemas agrícolas sostenibles y amigables con el ambiente.



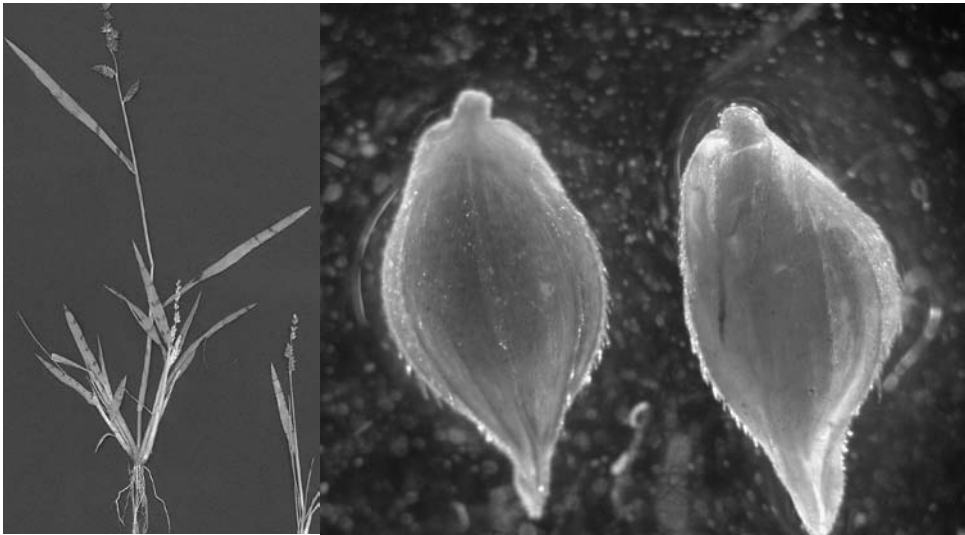
Ilustración 1. Aplicación de plaguicidas en campos de arroz (Sébaco, Nicaragua)

Estrategia metodológica

La estrategia metodológica del proyecto consta de dos grandes etapas: 1) estudio de la biología y ecología de la germinación de diferentes especies de malezas; y, 2) evaluación a nivel de laboratorio y, posteriormente, escalar el estudio sobre el efecto alelopático de diversas especies de la flora nicaragüense sobre arvenses reconocidas como problemáticas y de alta incidencia nacional e internacional. Paralelamente, se implementará un sistema modelo utilizando variedades apropiadas de arroz que se cultivan en Nicaragua, para los estudios de alelopatía.

Materiales y métodos

La primera etapa se inició con el estudio de la biología y ecología de *Rottboellia cochinchinensis* y *Echinochloa colona* L. Cada especie fue investigada por separado. Las semillas de *Echinochloa colona* L fueron colectadas en Malacatoya, departamento de Boaco (12° 35' 60N/85° 43' 0W) y las de *Rottboellia cochinchinensis*, en el departamento de Managua, hacienda Las Mercedes y en el departamento de Masaya, hacienda El Plantel. Las semillas se colectaron en octubre en fincas de experimentación de la UNA. Las semillas de las dos especies se colectaron y limpiaron manualmente y se secaron a temperatura ambiente (uno u once días); o se almacenaron en bolsas en cuarto de conservación de germoplasma (8° C) del Programa de Recursos Genéticos (REGEN), para las que se utilizaron para estudios de interrupción de dormancia.



94 **Ilustración 2.** Planta completa (izquierda) y semillas de *Echinochloa colona*

En cada caso, el diseño experimental utilizado fue un DCA y cada estudio tuvo dos fases: a) pruebas preliminares de germinación; y, b) estudio de interrupción de dormancia. Las pruebas preliminares consistieron en germinar semillas de ambas especies a iguales condiciones de temperatura y luz: 25 semillas de cada especie se pusieron a germinar sobre o entre papel filtro Whatman No. 4 o sobre humus (abono orgánico proveído por BIO-GREEN) esterilizado previamente, o no; y humedecido a capacidad de campo con agua destilada en placas petri. Posteriormente, las placas fueron trasladadas a una cámara de germinación en las que permanecieron durante un mes a 26° C en condiciones de oscuridad. Los ensayos de germinación de las pruebas preliminares fueron realizados después de uno u once días de almacenamiento a temperatura ambiente (aproximadamente 36° C) de las semillas colectadas. Cada placa tuvo cuatro réplicas.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en la fase a) Pruebas preliminares de germinación

Tratamientos (Sustrato)
Papel filtro semillas sobre el papel (T ₁)
Papel filtro semillas entre el papel (T ₂)
Humus estéril (superficial)(T ₃)
Humus estéril (enterradas 12 mm)(T ₄)
Humus no estéril (superficial)(T ₅)
Humus no estéril (enterradas 12 mm)(T ₆)

Posteriormente, se realizó un segundo experimento para la fase b de ambas semillas y se utilizaron dos métodos de escarificación de la semilla: 1) química (H_2SO_4 , 60 % v/v); y 2) mecánica (papel lija) y tratamientos con calidad de luz (roja), como métodos de interrupción de dormancia. En este caso, se evaluó la repuesta de germinación a 26° C y 20° C.



Ilustración 3. Montaje y distribución de placas en la cámara de germinación

Resultados y discusión

Las pruebas preliminares realizados con *Rottboellia cochinchinensis* y *Echinochloa colona* L, en iguales condiciones de temperatura y luz, mostraron algunas diferencias entre ambas especies, ya que únicamente las semillas de *R. cochinchinensis* respondieron positivamente a los tratamientos (T_1) y (T_2). Sin embargo, los porcentajes de germinación obtenidos mediante estos tratamientos fueron bajos: 18% y 5% respectivamente. En los tratamientos de la fase a no germinó ninguna semilla de *E. colona*. En cuanto a las pruebas de germinación con las semillas que fueron secadas a temperatura ambiente durante 11 días, la germinación de *R. cochinchinensis* fue aún menor (8%) y las semillas que germinaron fueron únicamente las del tratamiento (T_1). En este ensayo, se observó la germinación de una semilla de *E. colona* con el tratamiento (T_1). Por otro lado, pruebas de viabilidad realizadas sumergiendo las semillas de ambas especies en una solución al 2% de 2, 3, 5 cloruro de trifeniltetrazolium (TTC) mostraron viabilidad entre 80-90% para ambos tipos de semilla (Ilustraciones 4 y 5). Milberg (1994), señaló que existe un amplio espectro en el comportamiento de la germinación de especies herbáceas vegetales y destacó la importancia de esta diversidad de estrategias biológicas para mantener las poblaciones y prevenir la extinción de dichas especies. Adicionalmente, Noronha *et al.* (1997), mencionaron que la capacidad de las malezas para acumular semillas en el suelo es uno de los más importantes medios de supervivencia y la persistencia de estas semillas en el suelo depende de sus mecanismos para evitar la germinación de las semillas enterradas; sin embargo, los resultados de este experimento son preliminares y no son aún suficientes para diferenciar qué mecanismos o factores controlan la germinación de las semillas de *R. cochinchinensis* y *E. colona* que crecen en Nicaragua.



96

Ilustración 4. Semillas viables de *Rottboellia cochinchinensis* teñidas con TTC (2%)

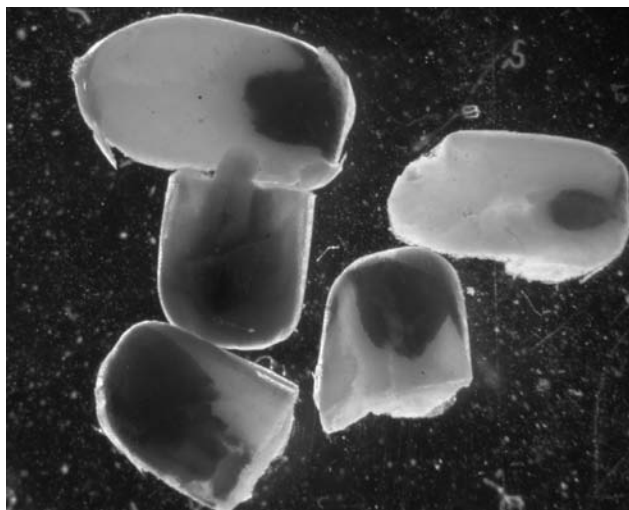


Ilustración 5. Semillas viables de *Echinochloa colona* teñidas con TTC (2%)

El desarrollo de la fase b está actualmente culminando y los datos preliminares de los resultados muestran que la dormancia de estas semillas podría ser producida por impermeabilidad de la testa o cubiertas seminal al agua o a los gases, puesto que la germinación de ambas especies alcanzó valores arriba del 50% al utilizar los métodos de escarificación para interrumpir la dormancia. Sin embargo, se deben concluir los análisis estadísticos para postular con mayor certeza si la dormancia de estas especies es mecánica (cubierta seminal endurecida), primaria (semilla dormante desde el momento que es liberada por la planta) (Crocker, 1914; Tayz y Zeiger, 2002) o una combinación de ambas.

La realización de estos primeros experimentos acerca de la biología y ecología de la germinación de malezas, ha sido un paso necesario para buscar la especie de maleza que, de manera más idónea, pueda ser utilizada como blanco o especie receptora de los bioensayos. Adicionalmente, se ha detectado que hay muy pocos datos en la literatura científica acerca de aspectos relacionados con la germinación de malezas, aunque recientemente ha surgido gran interés al respecto, probablemente debido a la necesidad de generar información sobre el manejo sostenible de malezas, que tiende a reducir el uso de plaguicidas sintéticos.

Conclusiones y perspectivas

Resultados preliminares de los ensayos de germinación en condiciones de laboratorio, indican que los factores ambientales (humedad, temperatura) y diferentes mecanismos de dormancia podrían regular la germinación y la sobrevivencia de semillas de malezas; por lo que, para efectuar cualquier estudio de control ecológico o estrategia de manejo sostenible de malezas, deberá inicialmente profundizarse en el estudio de la biología y ecología de la germinación de estas especies problemáticas. Adicionalmente, las investigaciones para manejar malezas o plagas mediante el uso de productos naturales biodegradables, como los compuestos con propiedades alelopáticas, es de importancia estratégica para los países en vías de desarrollo, donde el uso de modernas técnicas biotecnológicas (genómica, proteómica) esta característica puede contribuir al desarrollo de herbicidas y plaguicidas “biológicos”. Simultáneamente, la adecuación, por la generación de información y conocimiento, de prácticas agrícolas que potencien el uso de la alelopatía de acuerdo a las condiciones y metas de los agricultores en Nicaragua es una de las aplicaciones prácticas más importantes de este proyecto de investigación que apenas inicia.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Programa de Apoyo al Consejo Investigativo (PACI) de la Universidad Nacional Agraria (UNA) por el apoyo financiero que nos ha permitido abrir esta área de investigación.

Referencias bibliográficas

- CHUNG, I. M. *et al.*, (2003). “Comparison of allelopathic potential of rice leaves, straw and hull extracts on barnyardgrass”, *Agron. J.*, 95: 1063-1070. USA.
- CROCKER, W. y DAVIS, W., (1914). “Delayed germination in seed of *Alisma plantago*”, *Botanical gazette* 58: 285-321.
- DUKE, S. O. *et al.*, (2003). “United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on natural products for pest management”, *Pest Management Science* 59: 708-717. USA.
- DUKE, S. O. *et al.*, (1998). “Natural products as tools for weeds management”, *Proc. Jpn Weed Sci. Supl.* 1-11.
- EL-KHAWAS, S. A. y SHEHATA, M. M., (2005). “The allelopathic potentialities of *Acacia nilotica* and *Eucalyptus rostrata* on monocot (*Zea mays* L.) and dicot (*Phaseolus vulgaris* L.) plants”, *Biotechnology* 4: 23-34. USA.

- INDERJIT y DUKE, S. O., (2003). "Ecophysiological aspects of allelopathy, *Planta* 217: 529-539. USA.
- INDERJIT y NILSEN, E. T., (2003). "Bioassays and field studies for allelopathy in terrestrial plants: progress and problems". *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 221-238.
- KHANH, T. D. *et al.*, (2005). "Cropping and forage systems/Crop ecology/Organic Farming The exploitation of crop allelopathy in sustainable agricultural production". *Journal of Agronomy and Crops Science* 191: 172-182. USA.
- LAMBERS, H. *et al.*, (1998). *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag BERLIN LYDON
- J. y DUKE, S. O., (1993). "Glyphosate induction of elevated levels of hydroxybenzoic acid in higher plants". *J Agric Food Chem* 36: 813-818.
- MILBERG, P., (1994). "Germination ecology of the grassland biennial *Linum catharticum*" *Acta Botanica Neerlandica* 43: 261-269.
- MOODY, K., (1991). (Weed management in rice). D. Pimentel (ed.), *In Handbook of pest management in agriculture*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- NORONHA, A. *et al.*, (1997). "Rate of change in dormancy level and light requirement in weed seed during stratification", *Annals of Botany* 80: 795-801.
- OLOFSDOTTER, M., (2001). "Rice-A Step Toward Use of Allelopathy", *Agronomy Journal* 93: 3-8.
- OLOFSDOTTER, M. *et al.*, (2002). "Improving crop competitive ability using allelopathy an example from rice", *Plant Breeding* 121: 1-10.
- RENOUX, A.Y. y SUNAHARA, G. I., (2002). (Introduction), Sunahara GI, Renoux AY, Thellen C, Gaudet CL, Pilon A (ed.), *In Environmental análisis of contaminated sites*, London, UK John Wiley & Sons Ltd.
- RICE, E. L. (1984). "*Allelopathy*", Academic Press, Orlando, FL.
- RIMANDO, A. M. *et al.*, (2001). "Searching for Rice Allelochemicals. An Example of Bioassay-Guided Isolation", *Agronomy Journal* 93:16-20.
- SINGH, H. P. *et al.*, (2003). "Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities for sustainable weed management", *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 239-311.
- STEPHENSOSN, G. R., (2000). (Herbicide use and world food production: risk and benefits), *In Abstract of Int. Weed Sci. Congr.*, 3rd, Foz Do Iguassu, Brasil, 6-11 June.
- TAYZ, L. y ZEIGER E. (2002). *Plant Physiology*. Sinauer. Massachussets, USA.